

DOI:10.16125/j.cnki.1009-8224.2018.02.003

铜和镉复合污染对红树林区微生物群落结构和沉积物酶活性的影响

曾钦辉^{1,2}, 卢豪良^{1,2*}, 李裕红³, 张芳菲^{1,2}, 梅德罡^{1,2}, 徐明祎^{1,2}, 严重玲^{1,2}

(1. 厦门大学 滨海湿地生态系统教育部重点实验室, 福建, 厦门 361102;

2. 厦门大学 环境与生态学院, 福建, 厦门 361102; 3. 华侨大学 环境科学与工程系, 福建, 厦门 361021)

摘要:采用野外样地研究与室内根箱栽培相结合的方法,对漳江口红树林保护区铜、镉污染生境沉积物微生物结构与土壤酶活性进行研究,旨在探讨其对重金属的响应。微生物磷脂脂肪酸数据表明漳江口红树林湿地 3 种红树植物秋茄(*Kandelia obovata*)、白骨壤(*Avicennia marina*)、桐花树(*Aegiceras corniculatum*)根际土壤微生物群落的多样性与林外光滩区域比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。根际沉积物中荧光素水解酶(Fluorescein diacetate, FDA 酶)、脲酶、蔗糖酶活性与光滩差异有统计学意义($P < 0.05$)。基于野外研究,室内开展不同浓度 Cu 和 Cd(Cu 60 mg/kg, Cd 2 mg/kg 和 Cu 60 mg/kg, Cd 4 mg/kg)处理的根箱栽培实验。结果表明,重金属污染对根际土壤微生物生物量和微生物多样性的抑制效应有统计学意义($P < 0.05$)。随着沉积物中重金属浓度增加,土壤中的 3 种酶的活性差异有统计学意义($P < 0.05$)。微生物生物量,磷脂脂肪酸含量与土壤酶活性的相关性有统计学意义($P < 0.05$)。土壤酶活性与微生物群落结构可作为指示红树林重金属污染的敏感指标。

关键词:重金属污染;土壤酶活性;微生物群落多样性;磷脂脂肪酸

中图分类号:Q945.78

文献标识码:A

文章编号:1009-8224(2018)02-0013-09

红树林湿地位于海陆交错带,为污染物进入海洋的重要缓冲带,是海陆生态系统间物质交换的场所,贡献着近海生态系统大约 10% 的有机碳^[1]。红树林湿地生态系统具有维持物种多样性、抵御海啸灾害、游憩观光等多种生态服务功能。近年来,红树林湿地受到工业、农业以及水产养殖排放重金属的污染,生境持续退化^[2]。由于重金属污染物具有不能被生物降解、残留时间长、可通过食物链富集和毒性大等特性,湿地生态系统的重金属污染受到国内外学者越来越多的关注^[3]。红树林沉积物中重金属主要来自工农业生产、沿海养殖业以及人们排放生活污水及废弃物带来的污染,其中重金属 Cu 和 Cd 已成为红树林沉积物中最常见的重金属污染物^[4-6]。

土壤微生物是沉积物生态系统中数量极其庞大、种类繁多的重要组成部分,在养分循环、能量流动和污染物转化中起着关键作用,其活跃的生理活动为生态系统功能的维持提供了重要保障^[7-9]。重金属污染会降低土壤微生物生物量(microbial biomass, MB),影响土壤微生物的群落结构,同时使土壤酶活性受损,最终导致土壤肥力和质量退化以及土壤生态功能的退化^[10-12]。微生物多样性对土壤污染程度有指示作用,能够直接地反映土壤养分及环境质量的变化,真实评估土壤污染对生态系统的危害程度^[7]。红树林沉积物中绝大多数微生物种类不能在室内培养^[13]。磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)是活生物体细胞膜的重要成分,构成的变化能够反映样品中微生物群落结构的变化^[14]。因此,分析 PLFA 图谱可以表征微生物群落结构的信息,用于进行识别和定量描述,已被广泛应用于环境微生物群落结构与多样性研究。Chen、Yang 和 Chambers 等^[15-17]研究了红树林湿地土壤 PLFA 的组成,发现微生物群落多样性伴随红树林的演替而发生的变化,主要与植物高度、土壤酶活性、有机质和总氮等理化性质及潮水

收稿日期:2017-10-31

通信作者:卢豪良(1978—),男,福建寿宁人,副教授,从事红树林湿地污染生态学研究,E-mail:luhl@xmu.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金(31570503);国家重点研发计划(2017YFC0506102)

淹没相关.迄今,对于重金属污染下红树林沉积物微生物群落结构的研究鲜见报道.

本研究采用 PLFA 技术研究野外红树林湿地沉积物和室内根箱盆栽模拟 Cu 和 Cd 复合污染沉积物中微生物的群落结构,并结合土壤酶活性变化,探讨红树林沉积物中微生物群落结构等生态特性对重金属污染的响应,旨在解析不同重金属污染对沉积物生物学质量和功能的指示,为污染生境的修复提供数据支撑.

1 材料与方 法

1.1 样品采集与室内根箱盆栽

样地位于福建省云霄县漳江口红树林国家级自然保护区(117°24'07"~117°24'07"E,23°53'45"N).近年由于养殖污染排放,该区域 Cu 和 Cd 重金属含量也逐渐上升,野外样地分析结果显示 Cu 含量为 40.25~61.83 mg/kg, Cd 的含量为 0.47~0.51 mg/kg.2016 年 9 月,分别在保护区中采集白骨壤、桐花树、秋茄贴近根表(约 0~5 mm)根际沉积物和林外光滩沉积物(约 50 g,混合均匀),每个样地 3 次重复.采集的沉积物样品挑拣出细根和石砾等大颗粒物质后,放置冰盒带回实验室并置于-80 °C 冰箱贮存待测.室内模拟实验选用红树植物秋茄胚轴用红树林区沉积物(采自漳江口红树林保护区)栽培.沉积物理化性质见表 1.

表 1 栽培所用沉积物的理化性质(n=3)

Tab.1 Physical and chemical characteristics of the used sediment

理化性质	平均值	理化性质	平均值	理化性质	平均值
pH	6.32	沙粒含量/%	0.40	总 Cu 浓度/(mg·kg ⁻¹)	49.01
总碳含量/%	1.97	粉粒含量/%	82.40	总 Cd 浓度/(mg·kg ⁻¹)	0.738
总氮含量/%	0.14	粘粒含量/%	16.80	可交换态及碳酸盐结合态 Cu/(mg·kg ⁻¹)	0.77
总硫含量/%	0.51			可交换态及碳酸盐结合态 Cd/(mg·kg ⁻¹)	0.27

注:含量皆指干重.

室内根箱盆栽试验设 3 个处理,分别为:对照组(无重金属施加)、低浓度 Cd 施加(Cu 60 mg/kg, Cd 2 mg/kg)和高浓度 Cd 施加(Cu 60 mg/kg, Cd 4 mg/kg).重金属添加后稳定 60 d,为补充蒸发的水分损失,稳定期间用超纯水添加以保持沉积物表面水覆盖.

将采集的秋茄胚轴在 20~25 °C 条件下放置在洗净的沙子中进行培养,待秋茄长出 3 对叶后,将秋茄幼苗移植到自制根箱.实验室根箱采用 Li 等^[18]的装置,秋茄根系生长被限制于中心区的尼龙网(500 目)根袋(高为 7 cm,底面直径为 14 cm)内,紧挨着根袋 2 mm 厚的沉积物层被定义为根际.每个根际箱中加入 3 kg 沉积物,每盆种植 3 株秋茄幼苗,共 3 组处理,每组处理 3 个重复.

根箱栽培秋茄幼苗 6 周后,收集根袋下 2 mm 的根际沉积物,将一部分沉积物风干后磨碎过 60 目尼龙网筛,剩余部分放于-80 °C 冰箱中保存待用.

1.2 实验分析方法

1.2.1 沉积物理化性质测定 取风干的沉积物样品采用元素分析仪(Vario EL, Germany)测定土壤总氮、总碳;取 2 g 磨碎过 60 目筛的沉积物与去离子水质量体积比按 1:2.5 混合后,用 pH 计(Orion CHN 868, USA)测量沉积物的 pH.

重金属浓度测定:冻干磨碎过筛的沉积物样品用消解体系(浓硝酸、浓盐酸、氢氟酸的体积比为 3:1:1)进行微波消解后,过 0.22 μm 的水系滤膜,采用电感耦合等离子质谱仪(Agilent 7200 ICP-MS, USA)测定重金属含量,采用空白试剂和中国近海海洋标准沉积物(GBW 07314)进行质量控制,样品回收率为 90%~110%.

1.2.2 微生物磷脂脂肪酸(PLFA)分析 土壤中微生物群落组成测定主要通过 PLFA 提取和谱图分析. PLFA 分析采用 White 等^[19]和黄志群等^[20]的方法并进行改进.具体步骤:沉积物冷冻干燥后,过 2 mm 筛,称取 8 g 冷冻干燥(-50 °C)的沉积物样品于聚四氟乙烯离心管中,加入 23 mL 的单一相提取剂(氯仿、甲醇、柠檬酸的体积比为 1:2:0.8, pH 7.4),将离心管置于低速震荡机上摇动 2 h.离心收集上层清液,

再加入 23 mL 磷酸缓冲液于离心管的剩余土壤中,加入低速振荡器中振荡提取 2 h,离心,收集合并上清液,并加入 12 mL 三氯甲烷和 12 mL 磷酸缓冲液,避光静置,分层.玻璃试管收集氯仿相,用氮气吹干.

脂类(中性脂、糖脂、磷脂)分离均采用 SPE 柱,用氯仿、丙酮和甲醇淋洗磷脂并用新的玻璃试管收集滤液,再用氮气吹干并通过甲基化和皂化磷脂为磷脂脂肪酸甲酯.收集的脂肪酸甲酯采用带有 MIDI 峰识别软件(MIDI Inc., Newark, DE)的气相色谱(Agilent 6890N)进行分析,19:0 脂肪酸甲酯为内标.

本研究选择两种常用于表征污染胁迫下微生物的响应的比值:真菌脂肪酸与细菌脂肪酸之比(F/B)、革兰氏阳性和阴性菌脂肪酸之比(GP/GN)^[21].

1.2.3 土壤酶活性的测定 FDA 水解酶测定:FDA 水解酶测定的原理根据 Swisher^[22]和 Jiang^[23]的方法加以改进,原理为:FDA 是一种无色化合物,在介质中能被许多土壤酶所催化水解,并经脱水反应,产生酶解终产物荧光素,稳定不易被分解,并在 490 nm 处有强吸收峰,通过检测 490 nm 处的吸光值变化可计算得 FDA 水解酶活性.

蔗糖酶测定:根据 Gao 等^[24]的测定方法并加以改进,蔗糖酶催化蔗糖降解产生还原糖,进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应,生成棕红色氨基化合物,在 510 nm 有特征光吸收,在一定范围内 510 nm 光吸收增加速率与蔗糖酶活性成正比.

脲酶测定:脲酶的测定参考 Guo 等^[25]方法并改进,利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$,以产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的质量来表征脲酶活性.

1.3 数据分析

数据采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),多重比较分析(LSD)和相关性分析绘图采用 Origin 8.0 和 Excel.

2 结果与分析

2.1 沉积物理化性质的变化

沉积物中碳氮比和 pH 变化如图 1 所示.结果表明:林外光滩沉积物的碳氮比与林内根际土壤差异有统计学意义($P < 0.05$) (图 1(a)).室内的根箱盆栽实验也显示,随着 Cd 浓度的增大根际沉积物中碳氮比总体呈现下降的趋势(图 1(b)).碳氮比的变化会影响沉积物中的重金属的吸附动力学特征^[26],同时,沉积物中碳氮比可以作为表征微生物活动的参数,它反映了碳水化合物的比例和 N 的有效性,沉积物中碳氮比的减小显示微生物活动的增强^[27].根际沉积物中的碳氮比随着 Cd 处理浓度的增大而减少,这表明 Cd 的添加会使根际沉积物中微生物的活动增强,对根系有机物的分解速率增强^[28].

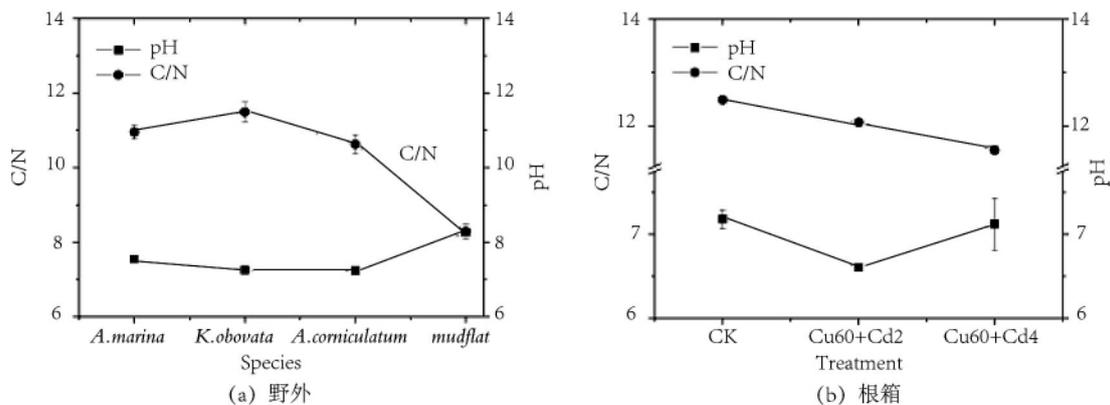


图 1 野外(a)和根箱(b)土壤中碳氮比和 pH

Fig.1 The ratio of carbon and nitrogen and pH in the field (a) and rhizobox (b) sediment

pH 是影响沉积物中重金属生物有效性及毒性的主要因素之一.野外沉积物的结果(图 1(a))表明,林内沉积物与林外光滩的 pH 差异有统计学意义($P < 0.05$).不同 Cd 浓度的施加导致秋茄根际的 pH 变化如图 1(b)所示.在相同的 Cu 浓度处理条件下,随着 Cd 添加量的增加,根际沉积物中 pH 呈现先下降

后上升的趋势;通常情况下,植物对 Cd 的吸收与沉积物的 pH 呈反比的关系,即随着根际沉积物的 pH 的增加,Cd 的生物有效性差异有统计学意义^[28].根箱盆栽实验中,当 Cd 添加量为 2.0 mg/kg 时,pH 达到最低.其可能的原因是 Cd 胁迫刺激秋茄产生防御机制,减少了有机酸的分泌,改变了根际环境^[29].

2.2 土壤微生物群落结构分析

PLFA 谱图法在土壤微生物量、土壤微生物生理状态、微生物群落表征和代谢活动等方面都有广泛的应用^[30].野外样品和室内根箱栽培的沉积物中的微生物生物量的分布情况如图 2 所示.红树林林内沉积物的微生物生物量与林外光滩差异有统计学意义(图 2(a))($P < 0.01$),这可能是由于植物根主动或被动地分泌出种类繁多的化合物,如氨基酸、有机酸、碳水化合物等^[31],以及根系表面至沉积物存在氧浓度由高到低的扩散层为好氧、厌氧微生物代谢活动提供了良好生境,使根际成为物质循环、有机物降解及生命活动最为强烈的微区^[31-33].研究结果显示,重金属的浓度与微生物生物量呈负相关($P < 0.01$),随着 Cd 污染浓度增加,根箱的土壤微生物的生物量逐渐降低(图 2(b)),表明重金属污染会降低土壤微生物生物量,影响土壤微生物的群落结构,从而改变土壤肥力和质量,这与 Gao 等^[11]研究的结果相同.

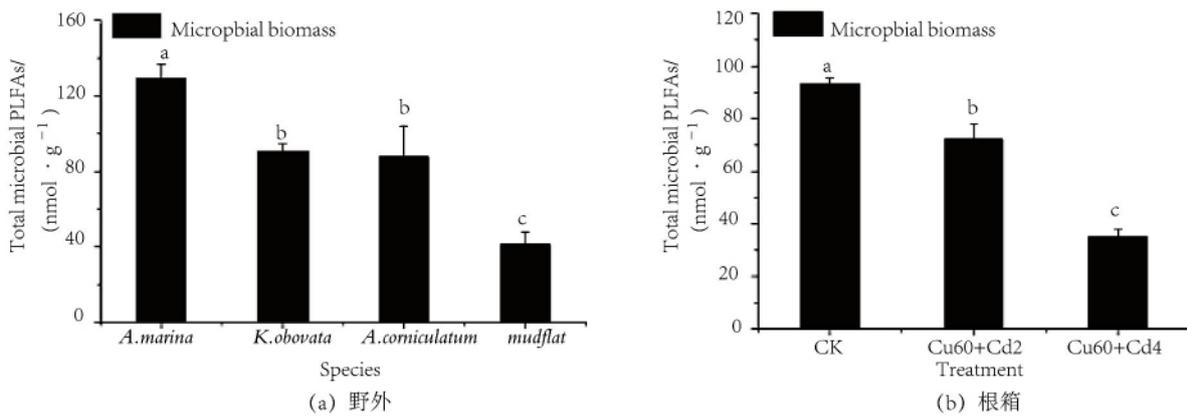


图 2 野外(a)和根箱(b)土壤中微生物生物量

Fig.2 Microbial biomass in the field (a) and rhizobox (b) sediment

土壤真菌和细菌 PLFAs 变化如图 3 所示.从图 3(a)和(c)可知:红树根际的真菌和细菌 PLFA 的含量与林外光滩差异有统计学意义($P < 0.05$).这主要是由于植物根系分泌作用的存在,导致根际环境中 pH、Eh、微生物等组成一个与非根际显著差异的特殊生境^[34-35].室内根箱实验结果显示:真菌和细菌 PLFA 含量的趋势基本相同(图 3(b),(d)),而随着重金属 Cd 浓度的升高,真菌和细菌 PLFA 的含量差异有统计学意义($P < 0.01$),真菌和细菌 PLFA 的变化幅度达到 30% 以上,这表明重金属污染下土壤微生物群落结构发生了显著的变化.

真菌脂肪酸与细菌脂肪酸之比(F/B)、革兰氏阳性和阴性菌脂肪酸之比(G+/G-)是两种常见的用于表征污染胁迫下微生物响应情况的指标,如土壤有机质水平、微生物量的变化、微生物群落的相对丰度等^[22-23].由于根际效应影响,红树林林内沉积物的 G+/G-与林外光滩差异有统计学意义($P < 0.01$)(图 4(a)).室内根箱的土壤 F/B 随着 Cd 添加量的增加差异无统计学意义($P > 0.05$),而根际土壤 G+/G-的比值随污染程度的增加,逐渐增大(图 4(b)),土壤生态系统越趋于不稳定^[33-35].

2.3 土壤酶活性

红树林林内的根际沉积物中 FDA 酶活性与林外光滩相比差异有统计学意义($P < 0.01$)(图 5(a),(c),(e)),FDA 水解酶能很好地反映土壤中微生物活性和土壤质量的变化以及生态系统有机质的转化,是土壤质量研究中的重要生物学指标之一^[22-23];沉积物中蔗糖酶的活性大小为:林内根际 > 林外光滩($P < 0.01$),蔗糖酶能够水解蔗糖变成相应的单糖而被机体吸收,其酶促作用产物与土壤有机质、氮、磷含量、微生物数量及土壤呼吸强度密切关,是评价土壤肥力的重要指标^[24];相比林外光滩,红树林林内的根际沉积物中脲酶活性较高,脲酶能够水解尿素,产生氨和碳酸.土壤脲酶活性与土壤的微生物数量、有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关^[24].红树林沉积物中土壤酶活性主要受根际生态系统中根系分泌物、根系泌氧、微生物多样性等特征影响^[31-33].室内根箱实验显示:重金属 Cd 施加的浓度与酶

活性呈负相关($P < 0.01$) (图 5(b), (d), (f)). 在重金属污染土壤中, 重金属一方面可螯合土壤蛋白基质、络合土壤基质或者与酶基质产生络合反应从而对酶活性产生直接影响; 另一方面能影响土壤动物及微生物等从而间接影响酶活性^[11-12].

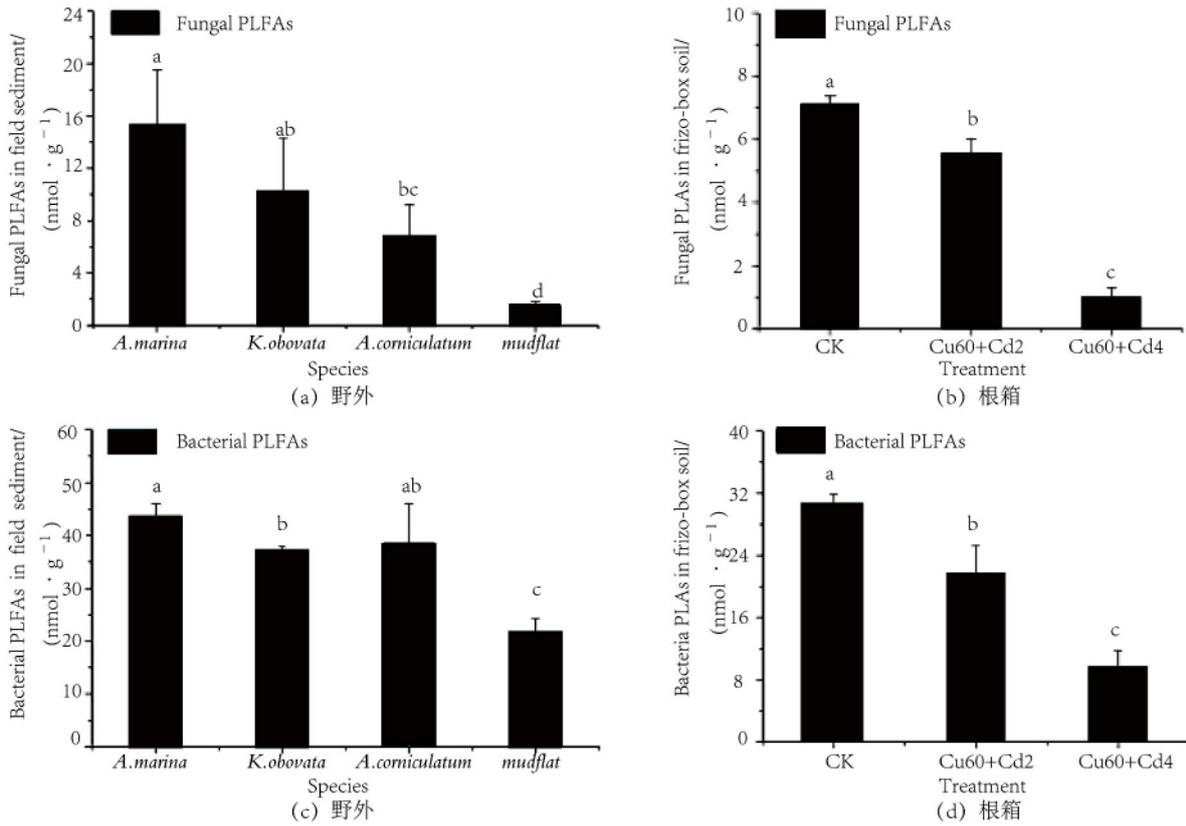


图 3 野外((a), (c))和根箱((b), (d))土壤中真菌和细菌 PLFAs

Fig.3 Fungal and bacteria PLFAs in the field ((a), (c)) and rhizobox((b), (d)) sediment

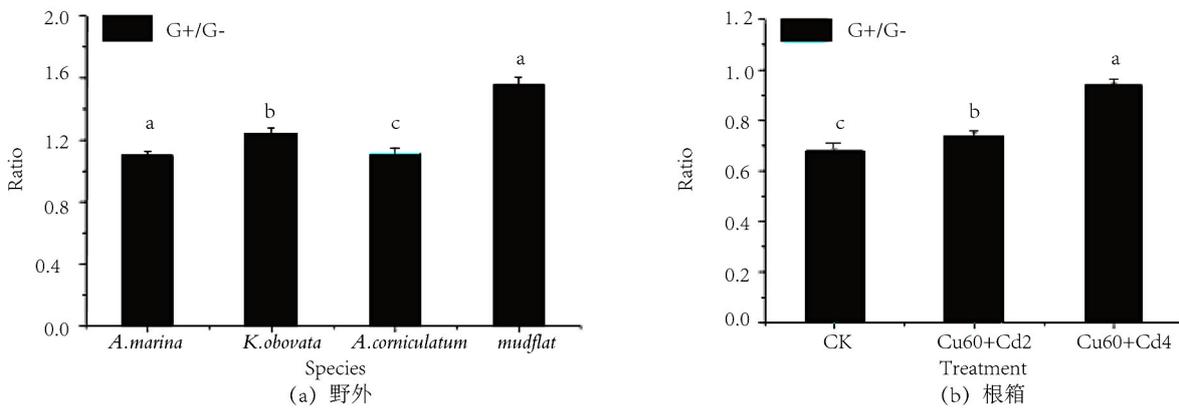


图 4 野外(a)和根箱(b)土壤中革兰氏阳性菌/阴性菌的比值变化

Fig.4 The ratio of gram-positive and gram-negative bacteria microbial biomass in the field (a) and rhizobox (b) sediment

2.4 土壤微生物与酶活性的相关性

本研究测定的 3 种酶之间差异有统计学意义($P < 0.01$, 表 2). 沉积物中微生物群落组成(细菌、真菌)之间的相关性极有统计学意义($P < 0.01$). 同时, 微生物群落结构与 3 种酶之间的正相关关系有统计学意义($P < 0.01$). 微生物群落和 3 种酶与碳氮比的相关性均具有统计学意义($P < 0.01$), 碳氮比可以作为表征微生物活动和酶活性的指标^[27]. 重金属 Cu 和 Cd 浓度与微生物群落结构及酶活性的负相关关系具有统计学意义($P < 0.01$), 说明重金属的增加会抑制微生物群落多样性和酶活性.

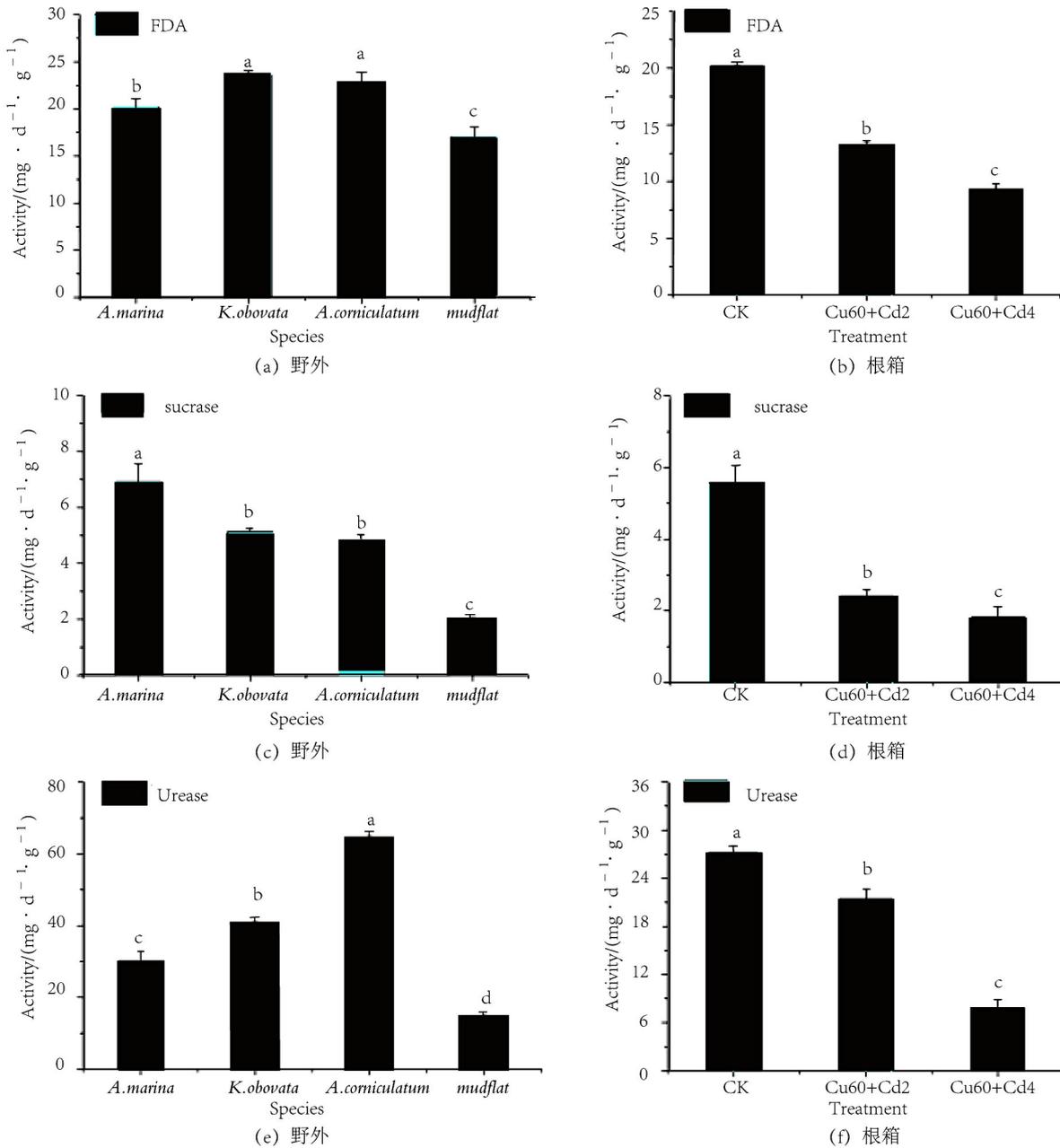


图 5 野外((a),(c),(e))和根箱((b),(d),(f))土壤中 FDA 水解酶、蔗糖酶和脲酶酶活性的变化

Fig.5 FDA, Sucrose and Urease activities in the field ((a),(c),(e)) and rhizobox ((b),(d),(f)) soil

表 2 微生物群落、酶活性和 C/N 比的相关性

Tab.2 Correlations between microbial populations, enzyme and the ratio of carbon and nitrogen in rhizobox and field soil

	微生物生物量	真菌	细菌	FDA	蔗糖酶	脲酶	碳氮比	镉
镉	-0.969**	-0.949**	-0.937**	-0.980**	-0.885**	-0.961**	-0.978**	1
碳氮比	0.959**	0.918**	0.899**	0.961**	0.877**	0.934**	1	
脲酶	0.981**	0.946**	0.893**	0.909**	0.760*	1		
蔗糖酶	0.796*	0.770*	0.805**	0.924**	1			
FDA	0.932**	0.884**	0.927**	1				
细菌	0.923**	0.931**	1					
真菌	0.930**	1						
微生物生物量	1							

注: *表示 $P < 0.05$, 显著相关; **表示 $P < 0.01$, 极显著相关.

3 结论

红树林根际对重金属铜和镉具有一定的耐受性,根际微生物群落多样性和酶活性和林外光滩差异有统计学意义($P < 0.05$).Cd 的添加增强根系有机物的分解速率,导致碳氮比的下降.同时施加 Cd 会影响秋茄根系的响应措施,造成根际 pH 的改变.Cd 浓度的增加会导致微生物生物量的降低,对微生物具有抑制效应,同时导致细菌和真菌的差异有统计学意义,增大根际土壤 G+/G-,影响沉积物的微生物群落结构.

当重金属铜的浓度为 60 mg/kg 和镉的浓度为 2 mg/kg 时,会抑制土壤酶的活性和微生物群落多样性,且随着重金属 Cd 浓度的增加而降低.微生物群落结构与土壤酶活性的相关性有统计学意义($P < 0.01$),因此土壤酶活性与微生物群落结构可作为指示红树林污染的敏感指标.

参考文献:

- [1] GLEESON J, SANTOS I R, MAHER D T, et al. Groundwater-surface water exchange in a mangrove tidal creek: evidence from natural geochemical tracers and implications for nutrient budgets[J]. *Marine Chemistry*, 2013, 156: 27-37.
- [2] SANDILYAN S, KATHIRESAN K. Decline of mangroves—A threat of heavy metal poisoning in Asia[J]. *Ocean & Coastal Management*, 2014, 102: 161-168.
- [3] NOBI E P, DILIPAN E, THANGARADJOU T, et al. Geochemical and geo-statistical assessment of heavy metal concentration in the sediments of different coastal ecosystems of Andaman Islands, India[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2010, 87(2): 253-264.
- [4] FERNANDEZ-CADENA J C, ANDRADE S, SILVA-COELLO C L, et al. Heavy metal concentration in mangrove surface sediments from the north-west coast of South America[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 82(1/2): 221-226.
- [5] WANG W Y, ZHANG X F, YAN C L, et al. Interactive effects of cadmium and pyrene on contaminant removal from co-contaminated sediment planted with mangrove *Kandelia obovata* (S., L.) Yong seedlings[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 84(1/2): 306-313.
- [6] QIU Y W, YU K F, ZHANG G, et al. Accumulation and partitioning of seven trace metals in mangroves and sediment cores from three estuarine wetlands of Hainan Island, China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1/2/3): 631-638.
- [7] 张妍, 崔晓勇, 罗维. 重金属污染对土壤微生物生态功能的影响[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(3): 305-313.
- [8] CHEN J H, HE F, ZHANG X H, et al. Heavy metal pollution decreases microbial abundance, diversity and activity within particle-size fractions of a paddy soil[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 164-181.
- [9] CHEN Y P, LIU Q, LIU Y J, et al. Responses of soil microbial activity to cadmium pollution and elevated CO₂ [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 6.
- [10] 韩桂琪, 王彬, 徐卫红, 等. 重金属 Cd、Zn、Cu、Pb 复合污染对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2012, 24(5): 238-242.
- [11] GAO Y, ZHOU P, MAO L, et al. Assessment of effects of heavy metals combined pollution on soil enzyme activities and microbial community structure: modified ecological dose-response model and PCR-RAPD[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2010, 60(3): 603-612.
- [12] 高扬, 毛亮, 周培, 等. Cd、Pb 污染下植物生长对土壤酶活性及微生物群落结构的影响[J]. *北京大学学报(自然科学版)*, 2010, 46(3): 339-345.
- [13] 龚骏, 宋延静, 张晓黎. 海岸带沉积物中氮循环功能微生物多样性[J]. *生物多样性*, 2013, 21(4): 434-445.
- [14] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review[J]. *Biol Fertil Soils*, 1999, 29: 111.
- [15] CHEN Q, ZHAO Q, LI J, et al. Mangrove succession enriches the sediment microbial community in South China[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 9.

- [16] YANG Q, LEI A P, LI F L, et al. Structure and function of soil microbial community in artificially planted *Sonneratia apetala* and *S. caseolaris* forests at different stand ages in Shenzhen Bay, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 85(2): 754-763.
- [17] CHAMBERS L G, GUEVARA R, BOYER J N, et al. Effects of salinity and inundation on microbial community structure and function in a mangrove peat soil[J]. *Wetlands*, 2016, 36(2): 361-371.
- [18] LI J, LIU J C, LU H L, et al. Influence of the phenols on the biogeochemical behavior of cadmium in the mangrove sediment[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 2206-2213.
- [19] WHITE D C, DAVIS W M, NICKELS J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate[J]. *Oecologia*, 1979, 40: 51-62.
- [20] HUANG Z Q, WAN X H, HE Z M, et al. Soil microbial biomass, community composition and soil nitrogen cycling in relation to tree species in subtropical China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 62: 68-75.
- [21] 王菲, 袁婷, 谷守宽, 等. 有机无机缓释复合肥对不同土壤微生物群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2015, 36(4): 1461-1467.
- [22] SWISHER R, CARROLL G C. Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces[J]. *Microbial Ecology*, 1980, 6(3): 217-226.
- [23] JIANG S, HUANG J, LU H L, et al. Optimisation for assay of fluorescein diacetate hydrolytic activity as a sensitive tool to evaluate impacts of pollutants and nutrients on microbial activity in coastal sediments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 110(1): 424-431.
- [24] GAO M L, SONG W H, ZHOU Q, et al. Interactive effect of oxytetracycline and lead on soil enzymatic activity and microbial biomass[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 36(2): 667-674.
- [25] GUO H, YAO J, CAI M M, et al. Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic activity and urease activity[J]. *Chemosphere*, 2012, 87(11): 1273-1280.
- [26] SUN Z G, MOU X J, SUN W L. Decomposition and heavy metal variations of the typical halophyte litters in coastal marshes of the Yellow River estuary, China[J]. *Chemosphere*, 2016, 147: 163-172.
- [27] SUN Z G, MOU X J, LIU J S. Effects of flooding regimes on the decomposition and nutrient dynamics of *Calamagrostis angustifolia* litter in the Sanjiang Plain of China[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2012, 66(8): 2235-2246.
- [28] ZHANG S J, LI T X, ZHANG X Z, et al. Changes in pH, dissolved organic matter and Cd species in the rhizosphere soils of Cd phytostabilizer *Athyrium wardii* (Hook.) Makino involved in Cd tolerance and accumulation[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(6): 4605-4613.
- [29] 卢豪良, 严重玲. 秋茄 (*Kandelia candel* (L)) 根系分泌低分子量有机酸及其对重金属生物有效性的影响[J]. *生态学报*, 2007, 27(10): 4173-4181.
- [30] WILLERS C, VAN RENSBURG P J J, CLAASSENS S. Phospholipid fatty acid profiling of microbial communities—a review of interpretations and recent applications[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2015, 119(5): 1207-1218.
- [31] TIAN C C, WANG C H, TIAN Y Y, et al. Effects of root radial oxygen loss on microbial communities involved in Fe redox cycling in wetland plant rhizosphere sediment[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2015, 24(11B): 3956-3962.
- [32] TIAN C C, WANG C B, TIAN Y Y, et al. Root radial oxygen loss and the effects on rhizosphere microarea of two submerged plants[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2015, 24(4): 1795-1802.
- [33] JIA Y, HUANG H, CHEN Z, et al. Arsenic uptake by rice is influenced by microbe-mediated arsenic redox changes in the rhizosphere[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(2): 1001-1007.
- [34] WANG Y Y, FANG L, LIN L, et al. Effects of low molecular-weight organic acids and dehydrogenase activity in rhizosphere sediments of mangrove plants on phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Chemosphere*, 2014, 99: 152-159.
- [35] JIA H, LU H L, DAI M Y, et al. Effect of root exudates on sorption, desorption, and transport of phenanthrene in mangrove sediments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 109(1): 171-177.

Effects of Cadmium and Copper Pollution on Microbial Community and Enzyme Activities in Mangrove Sediment

ZENG Qinhuai^{1,2}, LU Haoliang^{1,2}, LI Yuhong³, ZHANG Fangfei^{1,2},
MEI Degang^{1,2}, XU Mingyi^{1,2}, YAN Chongling^{1,2}

(1.Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, Xiamen University, Fujian 361102, China;

2.College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Fujian 361102, China;

3. Department of Environmental Science and Engineering, Huaqiao University, Fujian 361021, China)

Abstract: In this paper, we studied the microbiological structure and soil enzyme activities of copper and cadmium pollution habitat in the Zhangjiang Estuary mangrove reserve with the aim of exploring the response to heavy metals by combining the field study and rhizobox cultivation. Microbial phospholipid fatty acid (PLFA) data showed that the diversity of rhizosphere soil microbial community in *Kandelia obovata*, *Avicennia marina* and *Aegiceras corniculatum* were significantly higher in the Zhangjiang Estuary mangroves wetlands than in the mudflat ($P < 0.01$). Fluorescein diacetate (FDA), urease and invertase activities in rhizosphere sediments were significantly higher than those in mudflats ($P < 0.05$). Based on the field studies, the indoor cultivation experiments conducted with different concentrations of Cu and Cd (Cu 60 mg/kg, Cd 2 mg/kg and Cu 60 mg/kg, Cd 4 mg/kg) showed that heavy metal pollution was significant inhibit ($P < 0.05$) rhizosphere soil microbial biomass and microbial diversity. The activities of three enzymes in sediment all decreased significantly with the increase of heavy metal concentration ($P < 0.05$). Microbial biomass, phospholipid fatty acid content and soil enzyme activity had a significant positive correlation ($P < 0.05$). Soil enzyme activity and microbial community structure can be used as sensitive indicators of mangrove pollution.

Keywords: heavy metal pollution; soil enzyme activities; microbial community diversity; phospholipid fatty acid

(责任编辑 杨珠)

(上接第 5 页)

Effects of Diethyl Phthalate Exposure on the Activity and mRNA Expression of N-Acetylglucosaminidase from *L. vannamei*

XIE Xiuli¹, LIN Huibin², QI Xiao¹, XIE Xiaolan^{1*}

(1.College of Chemical Engineering and Materials, Quanzhou Normal University, Fujian 362000, China;

2.Jingfeng Town Government of Hui'an County, Fujian 362100, China)

Abstract: Diethyl phthalate (DEP) is a common organic pollutants in water and has endocrine disruptors and mutagenic effect. In this paper, the effects of DEP exposure on the activity and mRNA expression of N-acetylglucosaminidase (NAGase) from *L. vannamei* were investigated by using enzymatic reaction dynamic method and the real-time fluorescent quantitative PCR. The results showed that the activity of epidermal NAGase was significantly declined after prawns (*L. vannamei*) were exposed to the aquatic water containing 10 $\mu\text{g/L}$ DEP for 120 h, but that was recovered to the normal levels after being exposed for 240 h. DEP exposures firstly made visceral NAGase activity increase, and then descend. However, the trend of change of the visceral NAGase activity was not significant. Accompanied by the increase of DEP concentrations, the mRNA expressions of epidermal NAGase also increased while the prawns were exposed to DEP for 120 h. The 20 $\mu\text{g/L}$ DEP made the mRNA expression of epidermal NAGase enhanced significantly. The 10 $\mu\text{g/L}$ DEP also made the mRNA expression of visceral NAGase activated significantly after the prawns were exposed to DEP for 240 h.

Keywords: diethyl phthalate; *L. vannamei*; N-acetylglucosaminidase; enzyme activity; enzyme mRNA expression

(责任编辑 杨珠)